

資料

## 小児感染性胃腸炎におけるアストロウイルスの検出状況と血清型

福田 伸治, 高尾 信一, 桑山 勝, 島津 幸枝, 宮崎 佳都夫

### Incidence and serotype distribution of *Human Astrovirus* in Pediatric Gastroenteritis

SHINJI FUKUDA, SHINICHI TAKAO, MASARU KUWAYAMA, YUKIE SHIMAZU and KAZUO MIYAZAKI

(Received Sept. 27, 2004)

ウイルス性感染性胃腸炎の原因ウイルスの1つであるアストロウイルスの乳幼児における検出状況および血清型の特徴を明らかにするため、1994/95年から2003/04年の10シーズン(各シーズン:10月から5月)に広島県内の小児科で採取された711検体(糞便)を対象に検討を行った。10シーズンの広島県内におけるアストロウイルスの平均検出率は2.8%(各シーズンの検出率:0.0-6.0)であり、主流の血清型は1型であった。アストロウイルスは0および1歳で検出率が高く低年齢層のリスクが高いことが認められたが、地域による流行型(血清型)に大きな差は認められなかった。月別では3月から5月の検出率が高かったが、明確な月集積性は観察されなかった。

キーワード: *Human Astrovirus*, 小児感染性胃腸炎, 血清型

#### はじめに

小児の感染性胃腸炎の原因ウイルスの1つ[1]であるアストロウイルスはAstrovirus科Astrovirus属のウイルス[2]で図1の形態を示し、1型から8型の8つの血清型が認められている[1]。臨床現場においては、ノロウイルスほどの認識度はないが、通年検出されるウイルスで、特に冬から春季に好発する[3, 4]。アストロウイルス(HAstV)の主要臨床症状は下痢および嘔吐であり[1]、臨床症状から他のウイルス性感染性胃腸炎と区別することは困難である。また、HAstVの流行

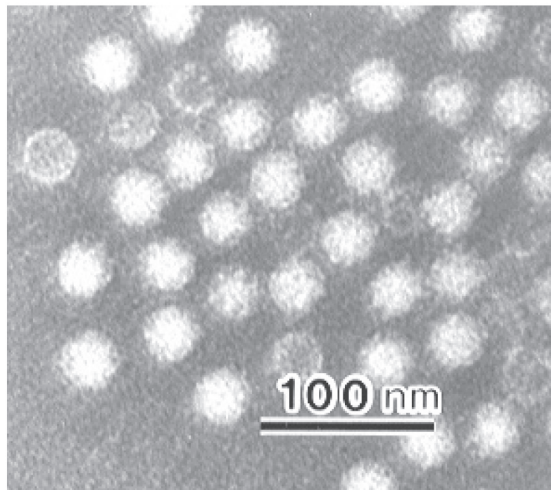


図1 アストロウイルスの透過型電子顕微鏡像

状況に関する報告は少ない。そこで我々は広島県における流行状況およびその検出株の特徴を把握することを目的に検討したので報告する。

#### 材料および方法

##### 1 対象

1994/95年から2003/04年の10シーズン(各シーズン:10月から5月)に広島県感染症動向調査に基づき、小児科で採取された糞便711検体を供試した。

##### 2 HAstV遺伝子の検出

Sakonら[5]のAC230/AC1'プライマーを用い、Reverse Transcription-PCRによりHAstV遺伝子を増幅した。

まず、リン酸緩衝液(PBS(-))で10~20%乳剤とし、ハイドロクロロフルオロカーボン(HCFC-141b)を約1/5量加えて振盪した後、2,500rpm, 30分間遠心分離した。そして、遠心上清250 $\mu$ lを用いて、Trizol LS試薬(Invitrogen)によりRNAを抽出した。

逆転写反応は5 $\times$ RT buffer 4 $\mu$ l, dNTPs(各2mM濃度) 4 $\mu$ l, ランダムプライマー(50 $\mu$ M, Takara) 1 $\mu$ l, ReverTra Ace(100u/ $\mu$ l, TOYOBO) 1 $\mu$ l, RNaseインヒビター(40u/ $\mu$ l, TOYOBO) 0.5 $\mu$ lに、RNA抽出液9.5 $\mu$ lを加えて行った。

PCR反応は10 $\times$ PCR buffer 5 $\mu$ l, dNTPs(各2mM濃度) 4 $\mu$ l, 各プライマー(10 $\mu$ M)各1 $\mu$ l, KOD Dash(2.5u/ $\mu$ l,

TOYOBO) 0.5 $\mu$ l, 逆転写産物3 $\mu$ lを加え, Diethyl Pyrocarbonate処理水 (DEPC水) で全量を50 $\mu$ lとし, 94 $^{\circ}$ C 3分間加熱後, 94 $^{\circ}$ C30秒間, 50 $^{\circ}$ C15秒間, 72 $^{\circ}$ C30秒間を40サイクル行い, 72 $^{\circ}$ C 5分間反応させた.

### 3 血清型別

Sakamotoら [6] の型別用プライマーを用い, 血清型を推定した.

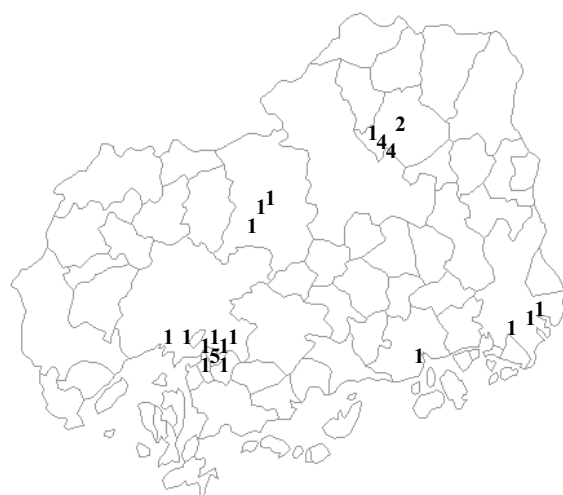
## 結 果

10シーズンにおけるHAstVの検出状況と血清型を表1に, 陽性例の概要を表2に示した. 10シーズンに検査した711検体中20検体がHAstV陽性であり, その平均検出率は2.8%であった. シーズン別では2001/02年の検出率が6.0%と最も高かったが, その他は0.0-4.5%の範囲内であった.

表1 10シーズンにおけるアストロウイルスの検出状況と血清型

シーズン	検体数	陽性数	血 清 型							
			1型	2型	3型	4型	5型	6型	7型	8型
1994/95	22	1	1							
1995/96	61	2	2							
1996/97	22									
1997/98	45	1	1							
1998/99	43	1		1						
1999/2000	68	1	1							
2000/01	136	3			2	1				
2001/02	150	9	9							
2002/03	112	1	1							
2003/04	52	1	1							
計	711	20	16	1	2	1				

血清型はSakamotoら [6] の方法により分類



数字は血清型を示す.

図2 血清型の地理的分布

HAstVが検出された年齢は, 0歳8株, 1歳9株, 3歳2株および4歳1株で, 20株中17株は0から1歳の患者から検出されており, 低年齢での検出率が高かった.

Sakamotoら [6] の方法により推定された血清型は1型16株, 2型1株, 4型2株および5型1株であり, 1型の検出率 (80.0%) が最も高かった. シーズン別では1998/99年に2型および2000/01年に4型および5型が検出されたが, その他のシーズンはすべて1型であった.

表3に月別の検出率を示した. 検出率は5月が30.0%で最も高く, 次いで12月20.0%, 3月および4月の各15.0%であり, 3月から5月での検出率は全体の60.0%を占めた.

HAstVが検出された患者の住居地を図2に示した. 9人が広島市およびその近郊, 4人が県東部, 7人が県北部に居住する患者であった. それぞれの地域における主要血清型は1型であったが, 広島市近郊で5型が, 県北部で2型および4型が検出された.

表2 アストロウイルス陽性例の概要

検体番号	検体採取年月日	性	年齢 (歳)	血清型
HAstV42	1995/3	男	0	1
HAstV136	1996/5	女	1	1
HAstV140	1996/5	女	1	1
HAstV212	1997/11	男	0	1
HAstV298	1999/4	女	1	2
HAstV373	2000/4	女	4	1
HAstV578	2001/5	男	1	5
HAstV582	2001/5	男	3	4
HAstV583	2001/5	男	0	4
HAstV627	2001/12	男	1	1
HAstV628	2001/12	男	1	1
HAstV636	2001/12	女	0	1
HAstV638	2001/12	男	0	1
HAstV669	2002/2	男	1	1
HAstV672	2002/1	女	0	1
HAstV717	2002/3	男	1	1
HAstV735	2002/3	男	3	1
HAstV758	2002/5	女	0	1
HAstV875	2003/2	女	1	1
HAstV1020	2004/4	女	0	1

表3 10シーズンにおけるアストロウイルスの月別検出率

10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月
	1 (5.0%)	4 (20.0)	1 (5.0)	2 (10.0)	3 (15.0)	3 (15.0)	6 (30.0)

考 察 文 献

わが国におけるHAstVの検出率は数%であり [3, 6], その血清型は1型が主流である [1, 4, 7] ことが報告されている. 我々の報告においても10シーズンのHAstVの検出率は0.0~6.0%, 平均2.8%で, 検出した株の血清型もその80%が1型で同様の成績であった. また, 諸外国においても検出率は数% [8-10] で, 血清型も1型が主流である [8-11]. HAstVは世界的にも同様の傾向にあり, 1型は広く世界中に分布している型であると考えられる. 今回, 県北部において1型以外にも2型および4型が分布し, 他地域と異なっているような結果が得られたが, わが国においても諸外国においても1型が主流であり, さらに長期間の観察を行うと広島県のような地理的に狭範囲においては血清型の地域差などの地理的特徴が見出される可能性は少ないと考えられる.

HAstVの罹患年齢は0歳から4歳の乳幼児であろうと推察されている [7]. 我々の結果においても, Utagawaら [3] の報告においても1歳以下での検出率が高く, この推測に合致する結果であり, 低年齢層でのリスクが高いことが示唆された. HAstVの多くは乳幼児での散発的な発生であるが, 大規模な集団発生の事例も報告されており [3, 12], 幼稚園あるいは保育園などでの集団発生にも注意をする必要がある.

HAstVの好発時期は冬季であるが, 通年検出されている [1, 7]. 我々の結果では明確な月集積性は認められなかったが, 20例中12例 (60%) は3月から5月に検出されており, 春季に検出率が高くなる傾向が認められた. Utagawaら [3] も3月および4月にピークがあることを報告している. また, 大瀬戸ら [4] は1型が冬期から初夏に, その他が春から夏期に検出される率が高いことを報告している. 我々が検出した2型, 4型および5型は4月および5月であったことから, そうした傾向にあることも推察されるが, 検討時期が10月から5月であり, 検出数も少ないことから明確ではなかった.

ま と め

- 1 広島県内におけるHAstVの主要流行型は1型であった.
- 2 県北部において1型以外の血清型も検出されたが, 地域による差は明確ではなかった.
- 3 0から1歳での検出率が高く, 低年齢層のリスクが高いことが認められた.
- 4 明確な月集積性は観察されなかったが, 3月から5月の検出率が高い傾向にあった.

- [1] 牛島廣治 (2002): ヒト急性胃腸炎の起因ウイルス. 総合臨床, 51, 2923-2927.
- [2] Monroe, S. S., Cater, M. J., Herrmann, J. E., Kurtz, J. B. and Matsui, S. M. (1995): Family astroviridae. Arch. Virol. Suppl. 10, 364-367.
- [3] Utagawa, E. T., Nishizawa, S., Sekine, S., Hayashi, Y., Ishihara, Y., Oishi, I., Iwasaki, A., Yamashita, I., Miyamura, K. and Yamazaki, S. (1994): Astrovirus as a cause of gastroenteritis in Japan. J. Clin. Microbiol., 32, 1841-1845.
- [4] 大瀬戸光明, 高橋和弘, 呼石弘子, 森 正俊, 井上博雄, 中野省三, 石丸啓郎 (1996): ELISA法によるアストロウイルス血清型別法の開発と地域におけるウイルス型別流行状況. 平成8年度愛媛衛研年報, 58, 14-18.
- [5] Sakon, N., Yamazaki, K., Utagawa, E., Okuno, Y., Oishi, I. (2000): Genomic characterization of human astrovirus type 6 Katano virus and the establishment of a rapid and effective reverse transcription-polymerase chain reaction to detect all serotypes of human astrovirus. J. Med. Virol., 61, 125-131.
- [6] Sakamoto, T., Negishi, H., Wang, Q. H., Akihara, S., Kim, B., Nishimura, S., Kaneshi, K., Nakaya, S., Ueda, Y., Sugita, K., Motohiro, T., Nishimura, T., Ushijima, H. (2000): Molecular epidemiology of astroviruses in Japan from 1995 to 1998 by reverse transcription-polymerase chain reaction with serotype-specific primers (1 to 8). J. Med. Virol., 61, 326-331.
- [7] 大石 功, 左近直美 (2000): アストロウイルス. ウイルス, 50, 197-207.
- [8] Kang, Y. H., Park, Y. K., Ahn, J. B., Yeun, J. D. and Jee, Y. M. (2002): Identification of human astrovirus infections from stool samples with diarrhea in Korea. Arch. Virol., 147, 1821-1827.
- [9] Schnagl, R. D., Belfrage, K., Farrington, R., Hutchinson, K., Lewis, V., Erlich, J. and Morey, F. (2002): Incidence of human astrovirus in central Australia (1995 to 1998) and comparison of deduced serotypes detected from 1981 to 1998. J. Clin. Microbiol., 40, 4114-4120.
- [10] Mendez-Toss, M., Griffin, D. D., Calva, J., Contreras, J. F., Puerto, F. I., Mota, F., Guiscafere, H., Cedillo, R., Munoz, O., Herrera, I., Lopez, S. and Arias, C. F. (2004): Prevalence and genetic

- diversity of human astroviruses in Mexican children with symptomatic and asymptomatic infections. *J. Clin. Microbiol.*, 42, 151-157.
- [11] Noel, J. and Cubitt, D. (1994): Identification of astrovirus serotypes from children treated at the Hospitals for Sick Children, London 1981-93. *Epidemiol. Infect.*, 113, 153-159.
- [12] Oishi, I., Yamazaki, K., Kimoto, T., Minekawa, Y., Utagawa, E., Yamazaki, S., Inouye, S., Grohmann, G. S., Monroe, S. S., Stine, S. E., Carcamo, S. and Glass, R. I. (1994): A large outbreak of acute gastroenteritis associated with astrovirus among students and teachers in Osaka, Japan. *J. Infect. Dis.*, 170, 439-443.